

氏名 嶋 本 達 家

学 位 の 種 類 菌 学 博 士

学 位 授 与 番 号 博 乙 第 2270 号

学 位 授 与 の 日 付 平 成 3 年 3 月 28 日

学 位 授 与 の 要 件 博士の学位論文提出者

(学位規則第 5 条第 2 項該当)

学 位 論 文 題 目 **Mutans streptococci の酸素代謝**

論 文 審 査 委 員 教授 下野 勉 教授 加藤慶二郎 教授 谷口 茂彦

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

【緒 言】

歯垢形式および腐蝕誘発に重要な役割を演じている mutans streptococci は、遺伝学的、生化学的、血清学的に多様な菌株の集まりであることが明らかとなっている。このうち、血清型 c, e, f 菌がヒトから高頻度に分離される。しかし、これらの菌の歯垢形式に関与する粘着性不溶性グルカン産生能は、他の血清型 (a, d, g) に比べて低いことが知られている。このことから、c, e, f 型菌は歯垢内において何らかの微生物生態学的な優位性を持っていると考えられる。

歯垢内の細菌は絶えず酸素に曝され、供給される栄養源も間欠的で制限された環境下で棲息している。したがって、活性酸素に対する防御能を持ち、かつ限られた栄養源を有効に利用する細菌は歯垢内で優勢となることが予想される。これまで、mutans streptococci を含むレンサ球菌はグルコースなどの糖類を酸素に依存しない発酵によって増殖に必要なエネルギーを産生する一方、酸素毒性産物を消去する酵素類を備えているために酸素耐性菌であると専ら考えられてきた。しかし、最近になって、mutans streptococci について、ピルビン酸代謝が嫌気と好気条件下では異なっていること、酸素を活発に代謝すること、菌株によって増殖に対する酸素の影響が異なること、活性酸素を遊離する菌株が存在することなどが次々と明らかにされている。

本研究では、これまで詳細な検討の行われていない mutans streptococci の血清型と酸素耐性機序との対応関係を明らかにするために、嫌気および好気条件下での増殖、ピルビン酸代謝および活性酸素代謝を種々の血清型菌について比較した。

【材料および方法】

Mutans streptococci の12株、他の Streptococci 3 株を供試菌株とした。増殖速度は0.2% グルコース含有TY培地における増殖曲線の傾きから求めた。増殖収率 (g 単位で表した

グルコース 1 モル当りの乾燥菌体重量増加) は、最終細胞増殖レベルと添加グルコース濃度の比例関係から求めた。酸素代謝に関与する酵素活性は嫌気および好気培養洗浄菌体を用いて測定した。

【結果・考察】

1. 増殖に及ぼす酸素の影響と好氣的ピルビン酸代謝 増殖速度は全ての供試菌株について、嫌気条件に比べて好気条件下で減少傾向を示した。一方、増殖収率の値は嫌気培養では菌株間の差異はほとんど認められなかったが、好気培養では、嫌気培養に比べて(I) 減少する菌株、(II) ほぼ同じ菌株、(III) 増加する菌株の3群に分かれた。また、これらの3群と血清型とは次のように対応した (I) d, g; (II) c, f; (III) b。これらの3群のグルコースおよびピルビン酸依存の酸素消費活性を検討したところ、IIおよびIII群の活性は好気培養によって顕著に増加した。山田ら(東北大)によると、嫌気条件下におけるピルビン酸代謝に重要な役割を果たし、エネルギー産生の一翼をになう pyruvate formate-lyase (PFL) が好気条件下では失活するばかりかその生成も抑制される。したがって、増殖収率と酸素消費活性との相関から、mutans streptococci のエネルギー産生様式の好気適応パターンは次のように分類できると考えられる。I, II, III群のいずれにおいても PFL は好気条件で機能しないが、II, III群ではそれに代わる酸素依存のピルビン酸代謝系が誘導され、エネルギー代謝が補償されるため、増殖収率が低下しない。これに対して、I群ではこのような補償がないために好気条件下で増殖収率が低下する。
 2. 過酸化水素の生成と消去 嫌氣的に増殖した mutans streptococci の洗浄菌体をグルコース存在下で好気条件におくと、全ての供試菌について外液(緩衝液)中に過酸化水素が蓄積した。これに対して、好氣的に増殖した菌体を同様の条件下においた場合には、過酸化水素を蓄積する菌株(A)とほとんど蓄積しない菌株(B)とに分かれ、これらの2群と血清型との対応は、(A) d, g; (B) a, b, c, fとなった。また、過酸化水素消去に関与するパーオキシダーゼについては、B群では好気培養によって活性が著しく上昇するが、A群の活性は培養時の酸素の有無による影響を受けない。一方、両群の間にはスーパーオキシド生成活性および同ディスムターゼ活性には顕著な差異は認められなかった。これらの結果は、B群では、菌体が基質存在下で酸素に曝露された場合に生成する過酸化水素の消去活性が好気培養によって誘導されることを示している。カタラーゼ活性を持たない mutans streptococci の増殖が過酸化水素によって顕著に抑制されることを考えると、過酸化水素消去活性の誘導は酸素耐性の重要な機構であると推察される。
- 以上の本研究の成績から、1) mutans streptococci のエネルギー産生様式および過酸化水素処理機構の好気適応パターンと血清型とは密接な相関があること、2) ヒト口腔内から高頻度に分離される S. mutans は強い好気適応能を有する菌株であるが、分離頻度の低い S. sobrinus は好気適応能が弱かった。3) S. mutans と S. sobrinus の分離頻度の違い

には生化学的性状の違いが関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

歯垢形成および腐蝕誘発に重要な役割を演じている *mutans streptococci* は、遺伝学的、生化学的、血清学的に多様な菌株の集まりであることが明らかにされている。ヒト口腔内では、c, e, f 型菌の歯垢形成に関与する粘着性不溶性グルカン産生能は他の血清型 (a, d, g) に比べて低いにもかかわらず、他の血清型よりも高頻度に分離される。このことから、c, e, f 型菌は歯垢内において何らかの微生物生態学的な優位性を持っていると考えられる。

多種の細菌が棲息する歯垢は絶えず酸素に曝され、かつ細菌への栄養源の供給も間欠的で制限された環境条件を提供している。したがって、活性酸素に対する防御能を持ち、かつ限られた栄養源を有効に利用する細菌は歯垢内で優勢となることが予想される。

本研究では、これまで詳細な検討の行われていない *mutans streptococci* の血清型と酸素耐性機序との対応関係を明らかにする目的で、嫌気および好気条件下での増殖、ピルビン酸代謝および活性酸素代謝を種々の血清型菌について比較した。

本研究の成績から、1) *mutans streptococci* のエネルギー産生様式および過酸化水素処理機構の好気適応パターンと血清型とは密接な相関があること、2) ヒト口腔内から高頻度に分離される *S. mutans* は強い好気適応能を有する菌株であるが、分離頻度の低い *S. sobrinus* は好気適応能が弱いこと、および3) *S. mutans* と *S. sobrinus* の分離頻度の違いには生化学的性状の違いが関与していること、が示唆された。

本研究で示された結果は、*mutans streptococci* の血清型と酸素耐性機序との対応関係を明らかにする上で有意義であると同時に *mutans streptococci* の酸素代謝に関して重要な知見を得た価値のある業績であり、本研究者は歯学博士の学位を得る資格があると認めた。